Faune et flore auxiliaires en agriculture. Paris, 4-5 mai 1983. - ACTA, Paris, 1984.

FAUNE ET FLORE DU SOL : LES ORGANISMES SYMBIOTIQUES.

F. LE TACON et M. OBATON
INRA, Seichamps et Montpellier

La symbiose, c'est-à-dire l'association entre deux organismes avec bénéfice réciproque, est un phénomène général chez les végétaux. Toutes les plantes vertes, à quelques rares exceptions près, vivent en symbiose soit avec des champignons (associations mycorhiziennes), soit avec des bactéries (associations fixatrices d'azote). La plante supérieure fournit aux micro-organismes des sucres synthétisés par photosynthèse, les micro-organismes fournissent à la plante des éléments minéraux (azote ammoniacal, orthophosphates) ou des molécules organiques plus ou moins complexes (acides aminés chez les mycorhizes).

LES ASSOCIATIONS SYMBIOTIQUES FIXATRICES D'AZOTE DES LÉGUMINEUSES

Généralités

Bien que les ressources en azote du globe soient inépuisables, l'azote est, après l'eau et le froid, le facteur limitant principal de la production agricole. Les réserves d'azote sont essentiellement constituées par l'azote de l'air qui se trouve sous forme moléculaire N_2. Les végétaux ne peuvent utiliser que l'azote minéral combiné NH_4^+ ou NO_3^- ou plus rarement l'azote organique aminé.

La transformation de l'azote moléculaire en azote combiné se fait par différentes voies. Elle peut se faire par voie chimique soit naturellement lors des orages (22×10^6 tonnes par an) soit artificiellement par production industrielle d'engrais azoté (75×10^6 tonnes par an). La principale voie de transformation reste la fixation biologique (fixation libre dans le sol, fixation rhizosphérique, fixation symbiotique par les *Rhizobium*, fixation symbiotique autre que par les *Rhizobium*). Le total de la fixation biologique de l'azote est d'environ 180×10^6 tonnes par an dont 70 pour la seule fixation symbiotique par *Rhizobium*.

La réduction de l'azote moléculaire en azote ammoniacal est évidemment coûteuse en énergie. Pour fabriquer une tonne d'azote ammoniacal, il faut environ 1,5 tonne de pétrole dont 1 TEP pour la synthèse et 0,5 TEP pour la mise à disposition de la plante.

Les mécanismes de la fixation symbiotique de l'azote

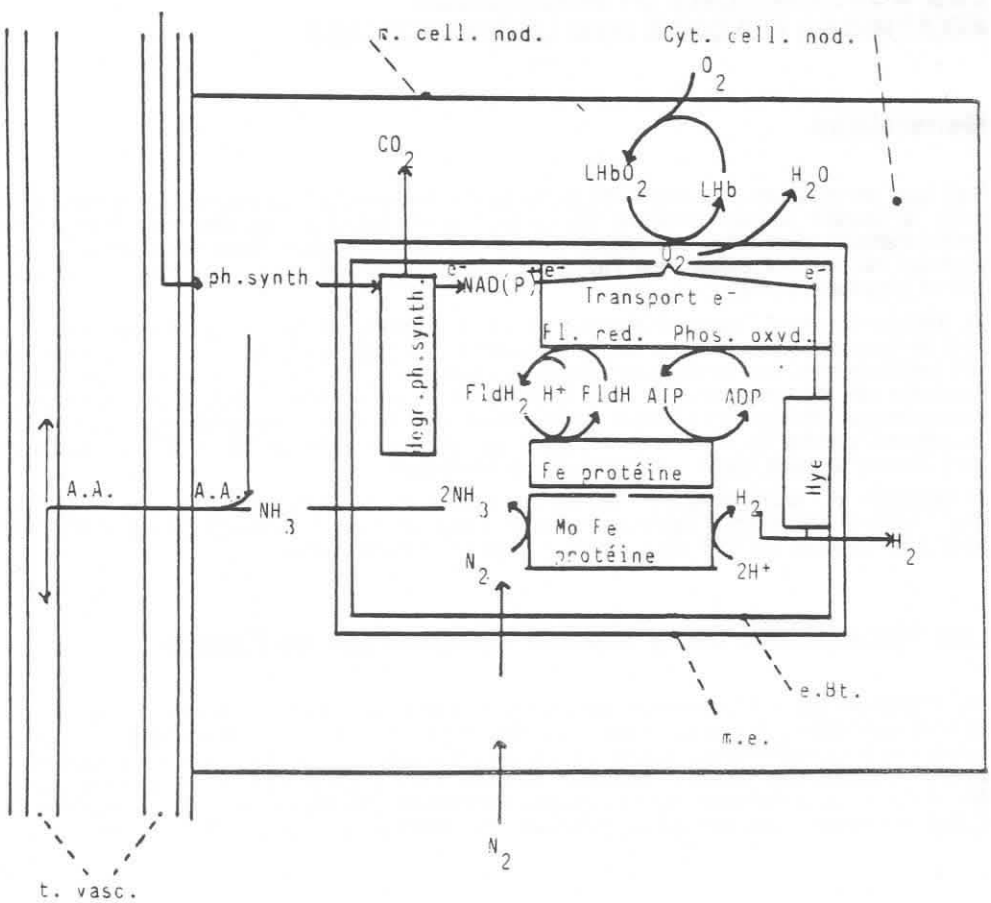
Les *Rhizobium* vivent fréquemment dans le sol à l'état libre. L'infection de la plante se fait par les poils absorbants. Après pénétration, les *Rhizobium* forment un cordon d'infection mucoïde. Lorsque le cordon d'infection atteint les cellules du cortex de la plante, il y a stimulation de la division cellulaire. Les bactéries pénètrent dans les cellules tétraploïdes au fur et à mesure de leur division. La prolifération de ces cellules tétraploïdes infectées entraîne la formation d'un nodule. A l'intérieur des cellules de l'hôte, les *Rhizobium* ont une forme différente, plus grande,

souvent ramifiée, appelée « bactéroïde ». Ils restent entourés d'une membrane qui les isole du cytoplasme de l'hôte.

L'azote moléculaire N_2 qui arrive au niveau des bactéroïdes est réduit en NH_4 par un enzyme : la nitrogénase. Cette protéïne contient du molybdène, ce qui explique l'effet dépressif de la carence en ce micro-élément sur la fixation et la croissance des légumineuses. Simultanément à la réduction de l'azote, les ions H^+ sont réduits en H_2. L'hydrogène est soit excrété dans le milieu, soit transformé en protons par un hydrogénase membranaire. L'énergie nécessaire à ces réductions est fournie par le système ATP ADP à partir des sources de carbone en provenance de la plante-hôte. L'azote ammoniacal est excrété dans le cytoplasme des cellules de la plante-hôte. Il est incorporé en acide aminé par le système glutamine synthétase (GS), glutamate synthase (GOGAT). Chez la plupart des légumineuses, l'azote migre dans les plants sous forme d'acide glutamique et de glutamine ; chez les phaséolées (haricot, soja, vigna), il est transporté sous forme d'uréïdes.

Figure 1 - Schéma de fonctionnement d'un nodule
(d'après EVANS, EMERICHE, RUIZ-ARGUESO, MAIER, ALBRECHT, 1979).

m.e. : membrane enveloppante
e.bt. : enveloppe du bactéroïde
cyt. cell. nod. : cytosol d'une cellule du nodule
m. cell. nod. : membrane d'une cellule du nodule
t. vasc. : tissu vasculaire de l'hôte
A.A. : acides aminés
ph. synth. : photosynthétats
degr. ph. synth. : dégradation des photosynthétats
Hye : hydrogénase
LHb : leghémoglobine
$FldH_2$: flavodoxine hydroquinone
FldH : flavodoxine semiquinone
Fl. red. : flavodoxine reductase
phos. oxyd. : phosphorylation oxydante



Les facteurs d'efficacité de la symbiose

L'efficacité de la fixation symbiotique de l'azote de l'air dépend de trois séries de facteurs :
- des *Rhizobium*,
- de la plante-hôte,
- des facteurs au milieu.

LES FACTEURS PROPRES AU *RHIZOBIUM*

Il existe différents groupes de *Rhizobium* adaptés aux différents groupes de légumineuses :
- *Rhizobium trifolii* qui nodulent les trèfles,
- *Rhizobium meliloti* qui nodulent la luzerne, le mélilot, le fénugrec,
- *Rhizobium leguminosarum* qui nodulent le pois, la vesce, la féverole, la lentille, la gesse,
- *Rhizobium phaseoli* qui nodulent les haricots tempérés,
- *Rhizobium japonicum* qui nodulent le soja,
- *Rhizobium lupini* qui nodulent le lupin, la saradelle.
- et un septième groupe mal défini, dit *Rhizobium tropical* ou Cowpea, qui forme des nodules sur les plantes des pays chauds.

Il est donc nécessaire d'utiliser les *Rhizobium* de la plante voulue lorsqu'on veut inoculer. De plus, la capacité fixatrice des souches est très variable, notamment parce que certaines souches gaspillent l'énergie provenant de la photosynthèse pour réduire les ions H^+ et non l'azote, ce qui conduit à un dégagement d'H_2, apparemment en pure perte.

De nombreux travaux fondamentaux sont actuellement effectués sur la génétique des *Rhizobium* : localisation des gènes réglant la synthèse de la nitrogénase et les mécanismes connexes permettant l'expression de la fixation de l'azote. Le *Rhizobium* constitue un matériel de choix pour ce type de travaux. La plupart des gènes responsables de la fixation de l'azote sont situés dans des plasmides faciles à ouvrir, à scinder, à reconstituer et à transférer d'une souche à l'autre. Il est probable qu'à plus ou moins long terme ces travaux aboutiront à la création de souches plus efficientes ou mieux adaptées à un milieu déterminé.

LES FACTEURS LIÉS À LA PLANTE-HÔTE

La nutrition azotée d'une légumineuse se fait normalement par deux voies : assimilation des nitrates du sol et réduction dans les feuilles (l'enzyme-clé de cette voie est la nitrate réductase) et, d'autre part, fixation de l'azote de l'air grâce à la nitrogénase du *Rhizobium*. Ces deux voies sont complémentaires mais leur part relative varie suivant les espèces.

La féverole a la réputation de fixer beaucoup d'azote, le pois relativement peu ; chez le haricot, la fixation n'a qu'une importance secondaire et la culture est souvent faite avec apport de 60 à 100 kg d'unité d'azote à l'hectare.

Il existe aussi une variabilité génétique pour la capacité fixatrice au sein d'une même espèce ; ceci a d'abord été démontré pour le haricot et la luzerne. Mais l'amélioration génétique de cette capacité fixatrice n'a jamais été un objectif pour le sélectionneur dans le passé. Il existe maintenant différentes techniques pour « cribler » les lignes de légumineuses en fonction de leur capacité à fixer l'azote. Des travaux sont en cours pour augmenter le pouvoir fixateur de la luzerne (USA), du haricot (France, Colombie), du pois et de la féverole (France).

LES FACTEURS DU MILIEU

Il est bien connu que le rendement des légumineuses est très variable. Cette grande variabilité est due à l'importance de différents facteurs de l'environnement sur la capacité de fixation symbiotique. Ainsi, le rendement moyen du soja aux USA est de 19 q/ha mais le record est de 67 q/ha. La part de l'azote fixé est évaluée entre 20 et 50 % (ce qui signifie que le soja appauvrit le sol en azote dans ce pays), mais elle peut atteindre 80 %.

En effet, les deux voies de nutrition azotée réagissent différemment aux facteurs du milieu. L'apport d'engrais azoté favorise la voie qui implique la nitrate réductase, ce qui diminue d'autant la fixation symbiotique ; c'est pourquoi l'apport d'engrais azoté sur luzerne ou soja est inutile. De même, un déficit hydrique sur soja réduit plus l'activité nitrogénase que nitrate réductase ; la plante continue à se développer à partir des nitrates du sol mais fixe peu l'azote de l'atmosphère.

En fait, il existe des légumineuses adaptées à une fixation élevée dans des milieux très divers, depuis les déserts jusqu'aux sols inondés des rizières. Il est donc important de choisir les espèces bien adaptées au milieu. Ainsi est actuellement entreprise une recherche sur les légumineuses fourragères adaptées à la croissance et à la fixation de l'azote dans les garrigues de la zone méditerranéenne.

L'UTILISATION DES LÉGUMINEUSES EN AGRICULTURE

Les légumineuses peuvent enrichir l'écosystème en azote. Pour obtenir ce résultat, il faut tenir compte de deux points importants :
– la fixation ne sera élevée que si la culture est vigoureuse et effectuée dans un sol pas trop riche en azote ;
– la légumineuse n'excrète pas d'azote par ses racines ; l'apport d'azote au sol ne se fait que par les résidus de récolte.

L'engrais vert, ou culture principale ou dérobée, pourra donc apporter 100 à 200 kg d'azote par enfouissement. Une luzerne ne laissera des reliquats importants que si la dernière coupe est enfouie (50 à 100 kg d'azote) ; un soja dont l'essentiel de l'azote est enlevé avec la récolte n'apportera que peu d'azote au sol (entre 30 et 70 kg/ha), mais aura, par contre, un effet très net sur la structure du sol.

L'INOCULATION DES LÉGUMINEUSES AU CHAMP

Les souches de *Rhizobium*, sélectionnées pour leur capacité fixatrice élevée, sont cultivées en fermenteur et le milieu de culture contenant les bactéries est mélangé stérilement à un support inerte stérile pour donner l'inoculum utilisable par l'agriculteur. Ce support est en général de la tourbe. L'inclusion des bactéries dans un gel de polymères est également envisagée.

Beaucoup d'échecs de l'inoculation sont dus à l'utilisation de produits de mauvaise qualité. Il est important que l'inoculum contienne une souche sélectionnée, spécifique de la légumineuse à cultiver, et que le produit soit non contaminé par des germes étrangers et très riche en bactéries spécifiques. Les normes françaises sont très sévères sur ce dernier point ; un inoculum doit apporter au moins un million de bactéries par gramme pour le soja et cinq mille pour la luzerne. Grâce à des progrès récents réalisés par les industriels, ceci est aisément réalisable et ce produit peut se conserver plus d'un an à température ambiante.

Dans les sols ne contenant pas les *Rhizobium* spécifiques, l'introduction d'une souche nouvelle est aisée à réaliser. Ainsi l'inoculation de la luzerne a rendu possible la culture de cette plante en sol acide.

Le *Rhizobium meliloti* est plus sensible que la luzerne à l'acidité et cela explique que cette plante ne puisse normalement se développer dans ces sols. Mais, grâce à l'inoculation de semences, la bactérie se développe dans la rhizosphère et nodule la plante. L'inoculation de la luzerne concerne, en France, environ 40 000 ha (15 000 ha par an).

Les *Rhizobium japonicum* sont naturellement absents des sols français car ils n'ont jamais été introduits. L'inoculation du soja est au départ toujours indispensable, car ce traitement multiplie le rendement par deux ou trois et augmente la teneur en protéïnes de la récolte de 25 %. Ces bactéries survivent bien dans les sols après introduction et donc une nouvelle inoculation est inutile après une première culture. Actuellement la culture du soja couvre 10 000 ha en France et on pense qu'elle atteindra 50 000 à 80 000 ha, dans le Sud-Ouest essentiellement, d'ici quelques années.

Dans les sols où des *Rhizobium* spécifiques sont déjà présents, le problème est différent. Des souches très compétitives de *Rhizobium* ont été sélectionnées. Malheureusement, la quantité qui devrait être apportée pour supplanter les souches naturelles est beaucoup trop élevée pour que ce soit actuellement rentable pour l'agriculteur.

UNE MEILLEURE UTILISATION DES LÉGUMINEUSES

Du fait du bas prix des engrais azotés et des tourteaux de soja dans les dernières décennies, les agriculteurs français ont eu tendance à diminuer les surfaces cultivées en légumineuses, engrais verts surtout, mais aussi fourrage et légumineuses à graine. Le recul de la luzerne et du trèfle, qui ne nécessitent pas d'apport d'azote, et leur remplacement par le maïs-fourrage qui exige l'épandage de 150 kg/ha d'azote, constitue une démonstration frappante de cette évolution.

En France, un effort de réhabilitation des légumineuses est entrepris : développement de la luzerne inoculée en sol acide, introduction du soja, recherche de nouveaux protéagineux tels que le pois, le lupin, la féverole, culture d'associations maïs-soja et maïs-haricot pour l'ensilage, introduction de légumineuses adaptées dans les terrains de parcours.

En pays tropicaux, plusieurs instituts cherchent à développer l'utilisation de légumineuses comme engrais vert, plante de couverture ou d'ombrage, brise-vent, arbres pour la reforestation du Sahel afin d'améliorer le bilan en azote du sol sans augmenter la consommation d'engrais azotés.

A court terme, ces efforts devraient permettre de mieux faire bénéficier l'agriculture de l'azote fixé par les légumineuses.
A long terme, des progrès pourront aussi être réalisés à partir des travaux sur l'écologie et la génétique des *Rhizobium*. La grande presse s'est faite l'écho des recherches d'ingéniérie génétique concernant le transfert de gènes de fixation (gène NIF) à d'autres micro-organismes (*Escherichia coli* et levure). Il est même envisagé de transférer ces gènes à des plantes supérieures. Le problème est très complexe car il ne suffit pas de transférer les gènes NIF mais également les vingt gènes déjà connus nécessaires à l'expression de cette fixation et il n'est pas encore possible de dire si ces travaux pourront conduire à des applications c'est-à-dire à la création de nouvelles plantes fixatrices d'azote.

LES ASSOCIATIONS SYMBIOTIQUES MYCORHIZIENNES À VÉSICULES ET ARBUSCULES

Les associations symbiotiques des lichens, des orchidées, des plantes fixatrices d'azote sont bien connues des biologistes, mais sont souvent considérées comme des exceptions. Ce que l'on sait moins, c'est que toutes les plantes vertes, à quelques très rares exceptions près, vivent en symbiose avec des champignons. Ces champignons sont associés aux racines et forment des mycorhizes (littéralement champignon racine). La plante fournit au champignon les hydrates de carbone photosynthétisés dans ses organes chlorophylliens ; le champignon fournit à la plante les éléments minéraux qu'il prélève dans le sol. La vie de la plante, dans les conditions naturelles, dépend totalement de son association mycorhizienne et vice-versa.

Cultiver et sélectionner les champignons mycorhiziens, inoculer artificiellement les champignons les plus efficaces pour améliorer la croissance des plantes sont devenus une réalité expérimentale et commencent à recevoir les premières applications. Schématiquement, il est possible de distinguer six types d'association mycorhizienne :
- les ectomycorhizes,
- les endomycorhizes à vésicules et arbuscules,
- les endomycorhizes à peloton des orchidées,
- les endomycorhizes à peloton des hélianthèmes,
- les mycorhizes éricoïdes,
- les ectendomycorhizes arbutoïdes.

L'essentiel des plantes cultivées forment des endomycorhizes à vésicules et arbuscules. Ce type d'association ne provoque que des changements mineurs dans la morphologie racinaire. Il n'y a pas de manteau entourant la racine. Il existe cependant un réseau mycélien externe et un réseau mycélien interne. Le mycélium, qui est non cloisonné, pénètre dans la racine et est d'abord intercellulaire. Il pénètre ensuite à l'intérieur des cellules de la racine et forme des arbuscules qui assurent une très grande surface de contact entre les deux associés. Ces arbuscules ont une durée de vie éphémère (quelques jours à quelques semaines) et finissent toujours par être digérés par l'hôte. A l'intérieur de la racine on rencontre aussi des vésicules, qui sont le plus souvent intercellulaires et qui semblent être des organes de réserve.

Ce type de mycorhize est extrêmement fréquent et est universellement répandu. On le rencontre chez certains arbres des forêts tempérées (Érable, Frêne, Merisier, Peuplier...), chez certains résineux (Taxacées, Araucariacées) et chez la plupart des arbres des zones équatoriales et tropicales. La majorité des plantes arbustives et herbacées possède des mycorhizes à vésicules et arbuscules et, par conséquent, la quasi totalité des espèces cultivées en possède, à l'exception des crucifères et des chénopodiacées (betterave).

Les champignons formant des endomycorhizes à vésicules et arbuscules sont des champignons inférieurs (Phycomycètes). Ils appartiennent à une seule famille, celle des Endogones et à seulement quatre genres. Dans ces quatre genres, on connaît actuellement

une quarantaine d'espèces réparties dans le monde. Ce nombre est extrêmement faible comparé à celui des champignons ectomycorhiziens qui, pourtant, ne sont associés qu'à un nombre limité d'espèces végétales. Ces champignons endomycorhiziens à vésicules et arbuscules sont strictement symbiotiques et ne peuvent être cultivés en culture pure.

Le fonctionnement des associations mycorhiziennes à vésicules et arbuscules

Il y a transfert d'éléments minéraux du champignon à l'hôte et transfert de substances carbonées photosynthétisées dans les organes chlorophylliens de l'hôte au champignon. Cependant, dans certains cas, en particulier chez les orchidées sans chlorophylle, le sens du transfert du carbone peut être inversé.

LE TRANSFERT DU CARBONE

Les sucres fournis par l'hôte sont des sucres simples, essentiellement du saccharose et, à un degré moindre, du glucose, du galactose et du mannose. Ces sucres ne sont pas transformés en sucres spécifiques avant d'être métabolisés par le champignon. Les quantités de sucres dérivées par les champignons mycorhiziens ont été récemment estimées par SNELLGROVE et al. chez le poireau. L'endophyte utilise environ 7 % de la quantité totale des sucres photosynthétisés par l'hôte.

LE RÔLE DES CHAMPIGNONS ENDOMYCORHIZIENS DANS L'ALIMENTATION MINÉRALE DE LA PLANTE

Les éléments minéraux solubles que seule la plante peut utiliser sont en quantité très faible dans le sol. Sans ces mécanismes particuliers, c'est-à-dire sans symbiose, l'alimentation minérale de la plante ne se ferait que très difficilement. La mycorhization facilite l'absorption de tous les éléments minéraux mais surtout celle de ceux qui sont les moins solubles et les moins mobiles dans le sol, c'est-à-dire le phosphore, le cuivre et le zinc.

Le phosphore est, avec l'azote, un des éléments les plus importants de la vie. Le phosphore est, entre autre, un des éléments essentiels intervenant dans l'assemblage des unités élémentaires de l'ADN et de l'ARN.

Or, le phosphore est très difficilement accessible dans le sol. Il s'y trouve sous différentes formes, solubles ou insolubles. Le phosphore insoluble est soit sous forme organique, soit sous forme minérale. Le phosphore organique, qui représente souvent plus de 50 % du phosphore total, provient de la transformation par les micro-organismes du sol des débris végétaux. Le phosphore engagé dans ces combinaisons organiques est sous des formes complexes très peu accessibles aux végétaux. Le phosphore minéral insoluble peut se trouver sous forme d'apatite ou sous forme d'autres minéraux primaires. Il se rencontre cependant le plus souvent à l'état de complexes amorphes ou plus ou moins cristallisés. Les agents complexants du phosphore sont essentiellement le fer et l'aluminium dans les sols acides et le calcium dans les sols calcaires. Le phosphore peut également être adsorbé sur les colloïdes du sol (argile-matière organique). Les colloïdes étant chargés électronégativement, les ions $H_2PO_4^-$ sont adsorbés par l'intermédiaire de ponts aluminiques, calciques ou ferriques. Le phosphore peut être également adsorbé directement sur les fractions colloïdales des hydroxydes de fer et d'aluminium. Il existe enfin du phosphore soluble, mais en quantité très faible. Le phosphore soluble se trouve essentiellement sous les formes ioniques $H_2PO_4^-$, $HPO_4^=$ et $PO_4^{\equiv}$, la proportion de ces différentes formes dépendant du pH. Dans les sols cultivés, la concentration en phosphore soluble des solutions du sol est en moyenne de 1,5 µM et peut atteindre 10 µM.

Le végétal seul s'alimente essentiellement aux dépens du phosphore soluble. Cette absorption se fait de manière active à faible concentration et de manière passive au-dessus de une millimole. L'absorption active s'effectue à l'aide d'une protéine jouant le rôle de transporteur et est très dépendante de la concentration en oxygène du milieu extérieur. Le phosphore étant très peu mobile, il se produit rapidement une zone de très faible concentration autour de la racine. La racine ne peut plus alors s'alimenter convenablement en phosphore, sauf si on augmente artificiellement la concentration en cet élément dans la solution du sol (fertilisation, solutions nutritives).

L'existence d'un puissant réseau mycélien externe permet à la plante mycorhizée de s'alimenter en dehors de la zone de faible concentration. Par des expériences réalisées avec du 32P, il a été démontré que le champignon associé à la racine pouvait absorber du phosphore à des distances très grandes de la racine (8 cm dans le cas du soja). D'autre part, la surface d'absorption elle-même est très fortement augmentée par la présence de mycélium.

La question que se posent depuis longtemps les chercheurs travaillant sur les mycorhizes est de savoir si le système symbiotique utilise les mêmes formes de phosphore que le système non symbiotique. La question reste ouverte. Plusieurs expériences modernes (HAYMAN, MOSSE, 1972 ; SANDERS, TINKER, 1971, 1973 en Grande-Bretagne ; GIANINAZZI-PEARSON et al., 1981 en France) effectuées sur un sol marqué au 32P laissent à penser que la plante mycorhizée s'alimente exactement comme la plante non mycorhizée, c'est-à-dire aux dépens des mêmes compartiments et essentiellement aux dépens du phosphore soluble. Néanmoins, d'autres auteurs pensent que les champignons auraient accès à des formes insolubles de phosphore (formes minérales et organiques). Il est possible aussi que l'existence du réseau mycélien externe, augmentant les prélèvements de phosphore dans la solution du sol, accélère le passage du phosphore des formes adsorbées ou même insolubles vers la forme soluble.

En Angleterre, Vivienne GIANINAZZI-PEARSON et TINKER (1975) ont mesuré les flux de phosphore dans les hyphes externes d'endomycorhizes. Cette vitesse est très élevée (1,0 à 2,0 $\times$ 10^{-9} moles P cm^{-2} sec^{-1}) et est très supérieure au flux de phosphore dans le sol (diffusion et convection). Les mécanismes de transfert du phosphore sont très mal connus. Les mécanismes d'absorption du phosphore par les hyphes mycéliens sont probablement identiques à ceux de la plante seule (mécanisme actif très lié aux processus respiratoires). Le champignon a cependant la capacité d'accumuler des quantités de phosphore beaucoup plus importantes que les plantes supérieures. La concentration en phosphore des tissus mycéliens est en général deux à trois fois plus grande que celle des tissus des plantes supérieures.

Il semble que cette capacité à accumuler le phosphore puisse être mise en relation avec un mécanisme très particulier qui n'existe, à quelques exceptions près, que chez les micro-organismes (bactéries et champignons). Cette particularité consiste à accumuler du phosphore sous forme de polyphosphates inorganiques. Ce phosphore qui est soustrait à l'équilibre ionique de la vacuole constitue des réserves de phosphore et d'énergie très rapidement utilisables par le champignon en cas de déficience en phosphore (MARTIN et al., 1982). Les transferts du phosphore entre le champignon et l'hôte se font au niveau des arbuscules. Certains auteurs pensent que le passage à travers la paroi mycélienne serait un processus passif, alors que le passage à travers la paroi de l'hôte serait un processus actif. MARX et al. (1982) ont mis en évidence une forte activité ATPasique dans le cytoplasme de l'hôte au niveau de l'arbuscule. Cette activité ATPasique pourrait indiquer l'existence de processus actifs nécessitant de l'énergie. Le transfert de phosphates à travers le plasmalemme de l'hôte pourrait être un de ces processus actifs.

D'autres effets des champignons mycorhiziens sur la plante-hôte

L'amélioration de la nutrition minérale de la plante n'est pas le seul mécanisme d'action des champignons mycorhiziens. Il semble qu'ils interviennent dans l'absorption de l'eau essentiellement par augmentation de la surface de contact entre le sol et la plante. Les champignons mycorhiziens peuvent aussi jouer un rôle indirect sur la croissance de la plante-hôte en intervenant sur les autres micro-organismes du sol et, en particulier, sur les micro-organismes pathogènes. Si les champignons mycorhiziens ne confèrent jamais une parfaite immunité de la plante-hôte vis-à-vis des pathogènes, ils peuvent augmenter la résistance des plantes par divers mécanismes. Enfin, les champignons endomycorhiziens pourraient intervenir sur la croissance de la plante-hôte par production de substances de croissance.

Les facteurs d'efficacité de la symbiose mycorhizienne

Un des facteurs les plus importants est la lumière qui conditionne le niveau de l'activité photosynthétique de la plante-hôte. Cette activité photosynthétique conditionne elle-même la concentration en sucres solubles de la racine et, par conséquent, les possibilités de développement des champignons symbiotiques. Les caractéristiques du sol ont un rôle non moins important. De très nombreuses expériences ont montré que l'intensité de la

mycorhization est toujours réduite lorsque la disponibilité en azote et en phosphore augmente dans le sol. Lorsque cette disponibilité est élevée, il y a en effet diminution de la concentration en sucres solubles de la racine, d'où réduction du développement des champignons symbiotiques. Le phosphore pourrait aussi agir en modifiant la perméabilité des parois des cellules des racines.

L'effet du pH est difficile à évaluer. Il semble cependant qu'il existe des espèces symbiotiques mycorhiziennes adaptées à tous les pH.

Les mycorhizes peuvent disparaître sous l'effet de la sécheresse ou sont fortement altérées. Inversement, l'excès d'eau est très néfaste au développement des mycorhizes. Leur développement nécessite en effet une très bonne aération du sol. La température joue un rôle important. L'optimum de développement des champignons et de l'établissement de la symbiose sont très variables suivant les associations.

Les possibilités d'intervention par inoculation

Les chances d'intervention par mycorhization contrôlée, c'est-à-dire par introduction artificielle de champignons mycorhiziens, seront d'autant plus grandes que le potentiel mycorhizien naturel sera faible. Ce potentiel peut être nul dans de nombreux cas (sols désinfectés, substrats artificiels de culture, vermiculite, argile expansée...). Les possibilités d'intervention seront encore importantes si l'on introduit des souches mycorhiziennes plus efficaces et plus compétitives que les souches mycorhiziennes naturelles. Ces différences d'efficacité entre espèces fongiques ou souches fongiques ont souvent été mises en évidence. On commence à connaître des souches particulièrement performantes : très souvent les champignons mycorhiziens d'un sol ne sont pas les meilleurs possibles. Un travail de sélection important est en cours dans de nombreux pays. Cette sélection se fait actuellement par simple recherche de souches naturellement performantes. Il est bien évident qu'un travail d'amélioration génétique pourrait permettre d'accroître les qualités des souches sélectionnées (effet accru sur la plante-hôte et compétitivité). On commence également à découvrir des souches efficaces dans des conditions de fertilité élevée. La réponse à la mycorhization dépend aussi beaucoup de la plante-hôte.

Les orangers et les citronniers, les légumineuses, le manioc, les liliacées sont presque totalement dépendants de la mycorhization. Inversement, les graminées répondent relativement peu à la mycorhization. Ces différences de réponse à la mycorhization semblent être en relation avec le développement du système racinaire de la plante-hôte et le développement des poils absorbants. Les possibilités de réponse à l'introduction artificielle de champignons mycorhiziens sont donc fonction de nombreux facteurs que l'on peut résumer de la façon suivante :

- niveau de fertilité du sol, en particulier en phosphore,
- existence ou non d'un inoculum naturel,
- efficacité de l'inoculum naturel,
- efficacité et compétitivité des espèces ou des souches mycorhiziennes introduites,
- nature de la plante-hôte.

LES TECHNIQUES D'INOCULATION

Les champignons endomycorhiziens à vésicules et arbuscules ne peuvent être cultivés en culture pure. L'inoculation ne peut donc se faire qu'à partir de spores ou de racines préalablement infectées. L'inoculation par spores n'est possible qu'au laboratoire ou expérimentalement à petite échelle.

A grande échelle, seule l'utilisation de racines ou de sol contenant un endophyte bien déterminé est possible. A partir de sol ou de substrats désinfectés, il est possible de produire de grandes quantités d'inoculum ne contenant qu'un champignon endomycorhizien bien défini. Néanmoins ce type d'inoculum n'est pas axénique et peut contenir des champignons pathogènes. Des essais sont actuellement en cours pour produire axéniquement des racines infectées par un endophyte déterminé, ce qui serait plus satisfaisant que la méthode précédente.

L'inoculation proprement dite se fait par incorporation au sol des racines mycorhizées soit avant le semis, soit avant le repiquage.

LES APPLICATIONS AGRONOMIQUES

En raison de la fertilisation pratiquée depuis de nombreuses années, la plupart des sols de grande culture des pays développés ont un niveau de phosphore élevé. Il ne semble donc pas pour l'instant, que dans ce type de milieu il soit possible d'intervenir, sauf si des souches de champignons endomycorhiziens efficaces, à niveau de fertilité élevé, deviennent disponibles dans l'avenir. Par contre, dans beaucoup de sols tropicaux, le faible niveau de phosphore est un des facteurs limitant le plus la production agricole. Ces sols sont aussi souvent déficients en soufre et surtout ont des concentrations trop élevées en aluminium et en manganèse. Le plus souvent, pour lutter contre la toxicité de l'aluminium, on augmente le pH de ces sols par apport de calcaire. Les champignons indigènes adaptés à un pH bas disparaissent ou deviennent inefficaces. Dans ces conditions, il semble possible d'inoculer avec succès des souches mieux adaptées aux modifications de sol. Des essais ont été réalisés dans différents pays, en sol désinfecté et non désinfecté. Les essais au champ, en condition de compétition avec une microflore symbiotique naturelle, sont les plus intéressants. Le tableau 1 page suivante donne un résumé des essais les plus significatifs réalisés dans ces conditions.

Les légumineuses répondent particulièrement bien à la mycorhization qui accroît indirectement les possibilités de fixation de l'azote de l'air par amélioration de la nutrition en phosphore. Beaucoup de légumineuses tropicales sont très fortement dépendantes des symbiotes mycorhiziens. Il semble exister d'importantes possibilités d'amélioration de la production par inoculation de symbiotes mycorhiziens pour le Stylosanthes qui est une des principales plantes fourragères des zones tropicales ou équatoriales et le soja.

Si l'introduction de souches de champignons endomycorhiziens s'avère bénéfique en grande culture, dans certaines conditions de sol, en climat tempéré ou en climat tropical, il reste à résoudre le problème de l'inoculation au champ. Pour l'instant, l'inoculation par culture pure, de champignons endomycorhiziens, n'est pas possible. Cependant, techniquement, l'inoculation à l'aide de racines infectées par un symbiote connu ne pose pas de difficultés insurmontables. Il est possible, à partir de collections de souches conservées en sol désinfecté sur plante-hôte, de produire des quantités importantes de racines infectées. Il restera un problème de technicité, souvent crucial dans les pays en voie de développement. Le coût de l'inoculation en plein champ peut cependant s'avérer relativement faible si une seule inoculation est suffisante et si le ou les symbiotes apportés se maintiennent indéfiniment dans le sol et s'ils s'y multiplient convenablement.

En dehors des plantes de grande culture, il existe tout un domaine où il semble possible d'intervenir efficacement à faible coût. Il s'agit de l'arboriculture, de la viticulture et, de manière plus générale, de tous les cas où il y a production préalable de plants en pépinière. Il est possible d'inoculer, au niveau de la pépinière, des symbiotes efficaces et compétitifs et de maintenir ces symbiotes avec la plante-hôte après plantation. Ces possibilités d'inoculation sont d'autant plus grandes que la plupart des sols de pépinières sont désinfectés pour lutter contre les divers pathogènes ou parasites du sol. En Californie, sur porte-greffe d'orangers ou de citronniers, l'inoculation en pépinière commence à être pratiquée commercialement après la désinfection du sol qui est quasiment obligatoire. Au Canada, PLENCHETTE, FURLAN et FORTIN ont obtenu expérimentalement d'excellents résultats sur le pommier. L'inoculation de jeunes semis avec un symbiote isolé sur frêne augmente très significativement la croissance des jeunes plants après repiquage sur un sol non désinfecté, malgré la présence d'une microflore symbiotique naturelle. L'inoculation est supérieure à un apport de 100 kg de phosphore.

La pratique de la culture *in vitro* aboutit à la production de plants ou de plantules totalement dépourvus de symbiotes. Ce matériel présente, après la sortie du tube, au moment de la transplantation sur un substrat non stérile, de nombreuses difficultés de croissance. Il n'est pas impossible que ces difficultés soient, au moins partiellement, en relation avec l'absence de symbiotes mycorhiziens. Des essais de mycorhization *in vitro* sont en cours de réalisation en France (GIANINAZZI-PEARSON V. et GIANINAZZI S. à Dijon, STRULLU D.G. à Angers).

En maraîchage, en culture sous serre sur substrat artificiel, ainsi qu'en horticulture, il semble qu'il y ait aussi des possibilités d'inoculation. La production de plants dépourvus de système mycorhizien semble entraîner divers accidents. Mais, là encore, il y a incompatibilité entre les niveaux de fertilité actuellement pratiqués et le maintien d'un système symbiotique.

LES POSSIBILITÉS D'APPLICATION POUR LE FUTUR

Bien que les symbioses mycorhiziennes soient connues depuis la fin du 19e siècle, elles ne sont guère connues des forestiers et encore moins des agronomes. Dans les pratiques culturales actuelles, elles sont le plus souvent négligées. Nous commençons à nous rendre

Tableau 1 – Réponse de différentes espèces à l'inoculation au champ de champignons endomycorhiziens en sol non désinfecté
T : témoin non désinfecté ; I : inoculation (sol non désinfecté) ; P : fertilisation phosphatée (d'après MOSSE, 1981).

Numéro expérimentation et auteurs	Espèces	Expression des résultats	T	T + P	I	I + P	Remarques
1. KHAN, 1972.	Maïs	Poids sec par plant.	119	175	263	244	Semis pré-inoculés. P = 280 kg/ha de superphosphate à 21 % de P.
2. KHAN, 1975.	Blé	Grains en g/m².	86	215	276	235	
3. SAÏF et KHAN, 1977.	Orge	Grains en g/m².	71	191	277	245	
4. ROSS et HARPER, 1970.	Soja : sol 1.	Grains en g pour dix rangées.	757		821		
	sol 2.		755		744		
5. BLACK et TINKER, 1977.	Pomme de terre	kg par placeau unitaire (tubercules).	6,1	9,5	7,4	9,8	
			T	I_1	I_2	I_3	
6. POWELL et DANIEL, 1978.	Trèfle blanc :	Poids sec en g par placeau unitaire.					I_1 *Glomus fasciculatus* ; I_2 *Glomus tenuis* ; I_3 *Gigaspora margarita*.
	sol 1.		1,77	2,16	3,29	1,96	
	sol 2.		0,55	0,93	0,67	1,20	
7. POWELL, 1979.	Trèfle blanc	Poids sec en g par placeau unitaire.	19	26	34		I_1 *Glomus tenuis* ; I_2 *Glomus tenuis* + *Gigaspora margarita*.
			T	TP_1	TP_2	I	$I + P_1$	$I + P_2$	
8. HAYMANN et MOSSE, 1979.	Trèfle blanc	Poids sec en mg/plant.	90	99	238	121	204	599	I plantules pré-inoculées ; P_1 24 kg P/ha ; P_2 95 kg P/ha.
			T		I_1		I_2		
9. WUSU-RENNOAN et MOSSE, 1979.	Oignon	Poids sec en g/rang.	0,32		1,68		4,36		I_1 inoculum mixte ; I_2 *Glomus caledonius*.
	Luzerne		2,09		4,46		15,34		
	Orge		10,18		13,95		14,31		
			Poids sec		Poids de nodules		Grains		
10. ISLAM, 1977.	Stylosanthes	Accroissement après inoculation.	28 %		140 %		25 %		
	Blé		–		–		61 %		

compte de leur importance pour les plantes. De nombreux accidents dus à des défauts de mycorhization pourraient être évités aussi bien en agriculture qu'en arboriculture ou en horticulture.

Des souches particulièrement performantes ont déjà été découvertes. Leur nombre continue à augmenter. Des méthodes d'inoculation à grande échelle commencent à voir le jour. Il est probable que, dans les années à venir, l'inoculation artificielle de champignons mycorhiziens sera une technique qui dépassera largement le cadre des laboratoires et qui permettra d'améliorer la productivité de diverses cultures tout en diminuant le niveau de fertilité minérale des sols et en assurant un meilleur état sanitaire.

CONCLUSIONS

Les symbioses fixatrices d'azote sont connues depuis longtemps. L'utilisation des légumineuses dans les rotations a permis, jusqu'à l'avènement de la fertilisation, de maintenir une disponibilité minérale en azote dans les sols.

L'utilisation des engrais azotés de synthèse a réduit le rôle des légumineuses depuis une vingtaine d'années. Les difficultés d'approvisionnement énergétiques ont redonné aux plantes fixatrices d'azote un nouvel intérêt. On devrait assister, dans les années à venir, à une utilisation accrue des légumineuses d'abord avec du matériel végétal classique puis, progressivement, avec du matériel végétal amélioré aussi bien au niveau du *Rhizobium* que de la plante-hôte.

Les applications des symbioses mycorhiziennes à vésicules et arbuscules sont encore en balbutiement. Ce n'est que depuis quelques années que les agronomes découvrent ces associations et leur appartenance aux écosystèmes agricoles. L'ignorance de l'existence et du rôle des associations mycorhiziennes a conduit à simplifier outrageusement les méthodes culturales.

Dans un premier temps, une meilleure adéquation des pratiques culturales devrait permettre le maintien et la protection des systèmes symbiotiques existant naturellement.

Dans un deuxième temps, la production de matériel amélioré aussi bien au niveau des endophytes que de la plante-hôte devrait permettre d'étendre les possibilités d'inoculation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABBOTT L.K., ROBSON A.D., 1977. Growth stimulation of subterranean clover with vesicular arbuscular mycorrhizas. *Austrian J. Agric. Res.* 28, 639-649.

ABBOTT L.K., ROBSON A.D., 1978. Growth of subterranean clover in relation to the formation of endomycorrhizas by introduced and indigenous fungi in a field soil. *New Phytol.* 81, 575-585.

AMARGER N., 1977. Nitrogen fixation by *Rhizobium* - Legumes associations. Seminal in the CEC programme of coordination of research on protein production Dijon, September 12-20.

AMARGER N., MARIOTTI A., MARIOTTI F., 1977. Essai d'estimation du taux d'azote fixé symbiotiquement chez le lupin par le traçage isotopique naturel (15N). *C.R. Acad. Sc., 284*, 2179-2182.

AMARGER N., MARIOTTI A., MARIOTTI F., DURR J.C., BOURGUIGNON C., LAGACHERIE B., 1979. Estimate of symbiotically fixed nitrogen in field grown soybeans using variations in 15N natural abundance. *Plant and Soil*, 52, 269-280.

AMARGER N., 1979. Compétitivité et sélection de souches de *Rhizobium*. *Physiol. Vég.* 17, 671-672.

ASIMI S., GIANINAZZI-PEARSON V., OBATON M., BERTHEAU Y., GIANINAZZI S., 1978. Interactions entre les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VA) et le *Rhizobium* chez le soja. 103e Congrès national des Sociétés Savantes, NANCY, Sciences, Facs. 1, 247-256.

ATKINSON D., DAVISON A.W., 1972. The effects of phosphorus deficiency on water content and response to drought. *New Phytol.* 72, 307-313.

AZCON R.D., BAREA J.M., HAYMAN D.S., 1976. Utilization of rock phosphate in alkaline soils by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria. *Soil Biol. Biochem.* 8, 135-138.

BAREA J.M., AZCON R., HAYMAN D., 1975. Possible synergistic interactions between Endogone and phosphate-solubilizing bacteria in low-phosphate soils. *In* F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker (ed.) Endomycorrhizas. *Acad. Press London,* 409-417.

BENSON N.R., COVEY R.P., 1976. Response of apple seedlings to zinc fertilization and mycorrhizal inoculation. *J. Amer Soc. Hort. Sci.* 11, 252-253.

BLACK R.L., TINKER P.B., 1977. Interactions between effects of vesicular arbuscular mycorrhiza and fertilizer phosphorus on yields of potatoes in the fields. *Nature* (London) 267, 510-511.

BLANCHET R., 1975. Possibilités d'adaptation du soja en France et perspectives d'avenir. *B.T.I.* 298, 213-222.

BOUCHER C., BERGERON B., BARATE DE BERTALMIO M., DENARIE J., 1977. Introduction of bacteriophage Mu into *Pseudomonas solanacearum* and *Rhizobium meliloti* using the R factor RP4. *J. Gen. Microbiol., 98,* 253-263.

BOULLARD B., 1968. Les mycorhizes. *Masson et Cie.* 120, Bd St Germain, Paris VI[e].

CASSE F., BOUCHER C., JULLIOT J.S., MICHEL M., DENARIE J., 1979. Identification and characterization of large plasmids in *Rhizobium meliloti* using agarose gel electrophoresis. *J. Gen. Microbiol. 113,* 229-242.

CASSE F., DAVID M., BOISTARD P., JULLIOT J.S., BOUCHER C., JOUANIN L., HUGUET T., DENARIE J., 1979. Presence of large plasmids and use of Inc P-1 factors in *Rhizobium. In* "Plasmids of medical, environmental and commercial importance", Timmis K.N. and A. Pühler Eds., Norht-Holland Elsevier, Amsterdam, 327-338.

CATROUX G., AMARGER N., LAGACHERIE B., PICARD, 1980. La culture des légumineuses ; une possibilité d'économiser l'énergie en agriculture. *Cahiers du CENECA,* Colloque Agriculture et Énergie, 322-1 à 322-4.

COOPER K.M., 1975. Growth responses to the formation of endotrophic mycorrhizas in *Solanum leptospermum,* and New-Zealand ferns. *In* F.E. Sanders, B. Mosse, and P.B. Tinker (ed.) Endomycorrhizas. *Acad. Press. London,* 391-407.

DAFT M.J., EL-GIAHMI A.A., 1974. Effects of Endogone mycorrhiza on plant growth. VII influence of infection on the growth and nodulation in French Beans *(Phaseolus vulgaris). New Phytol.* 73, 1139-1147.

DANIELS B.A., 1979. *Glomus epigaeus sp* nov. a useful fungus for vesicular-arbuscular mycorrhizal research. *Can. J. Bot.* 59, 539.

DECAU J., BOUNIOLS A., LENCREROT P., PUECH J., 1975. Concurrence ou complémentarité de l'alimentation azotée non symbiotique et de la fixation bactérienne chez le soja (Glycine max. L. Merr.) *C.R. Acad. Sci. Paris,* 281, 535-538.

DECAU J., BOUNIOLS A., MONDIES M., PACE A., PUJOL B., 1976. Contribution à l'étude de la nutrition azotée du soja (Glycine max. L. Merr) : recherche d'une estimation des activités respectives de la fixation bactérienne et de l'absorption non symbiotique fondée sur le dosage des nitrates présents dans le végétal. *C.R. Acad. Sci. Paris,* 283, 773-776.

DENARIE J., TRUCHET G., 1976. Genetics of *Rhizobium* : a short survey. *In* « Nitrogen fixation », Vol. 2, W.E. Newton and C.J. Nyma (ed.) *Washington State University Press,* 343-357.

DENARIE J., ROSENBERG C., BERGERON B., BOUCHER C., MICHEL M., BARATE DE BERTALMIO M., 1977. Potentiel of RP4 : Mu plasmids of *in vivo* genetic engineering of Gramnegative bacteria. *In* "DNA insertion elements, plasmids and episomes". A.I. Bukhari, J.A. Shapiro, and S.L. Adhya Eds. Cold Spring Harbor Laboratory, 507-520.

DENARIE J., TRUCHET G., 1979. La symbiose rhizobium-légumineuses : rôles respectifs des partenaires. *Physiol. Vég. 17,* 643-667.

DENARIE J., ROSENBERG C., BOISTARD P., TRUCHET G., CASSE-DELBARD F., 1981. Plasmid control of symbiotic properties in *Rhizobium meliloti. In* "Nitrogen fixation in perspective", A.H. Gibson ed., Norht Holland Elsevier, Amsterdam, 137-141.

DEROCHE M.E., 1980. Influence de la photosynthèse sur la fixation biologique chez les légumineuses. *Le Sélectionneur français,* 28, 43-54.

EVANS H.J., EMERICH D.W., RUIZ-ARGUESO T., MAIER R.J., ALBRECHT S.L., 1979. *In* "Proceedings of the Steenbock - Kettering International Symposium on nitrogen Fixation", W.H. Ormeyoanson and W.E. Newton, eds., *Univ. Park Press,* Baltimore, Maryland.

FURLAN V., FORTIN J.A., 1973. Formation of endomycorrhizae by *Endogone calospora* on *Allium cepa* under three temperature regimes. *Naturaliste Canadien* 100, 467-477.

GERDEMANN J.W., 1964. The effect of mycorrhiza on the growth of maize. *Mycologia* 56, 342-349.

GERDEMANN J.W., NICOLSON T.H., 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. British Mycol. Soc.* 46, 235-246.

GERDEMANN J.W., TRAPPE J.M., 1974. The Endogonaceae of the Pacific Northwest. *Mycologie* Memoir n° 5, 75 p.

GIANINAZZI-PEARSON V., ASIMI A., GIANINAZZI S., 1979. Les endomycorhizes et les bactéries fixatrices d'azote chez le soja. *Physiol. Veg.,* 17, 673-674.

GIANINAZZI-PEARSON V., 1982. Physiologie des endomycorhizes et perspectives offertes par leur utilisation. *Ac. Agric. de France.* Séance du 17 février 1982, 380-389.

GIANINAZZI-PEARSON V., 1982. Importance des mycorhizes dans la nutrition et la physiologie des plantes. Les mycorhizes ; Biologie et utilisation - Les Colloques de l'INRA N° 13.

GIANINAZZI S., TROUVELOT A., GIANINAZZI-PEARSON V., 1982. Les endomycorhizes : importance dans la croissance et le développement des arbres fruitiers. 2e Colloque sur les recherches fruitières, Bordeaux, 73-81.

HALLIDAY J., PATE I.S., 1976. The acetylene reduction assay as a mean of studying nitrogen fixation in white clover under sward and laboratory conditions. *J. of Brit. Grass. Sci* Vol. 31, 29-35.

HARDY R.W.F., HAVELKA U.D., 1975. Nitrogen fixation research : a key to world food. *Science, 188,* 633-643.

HARLEY J.L., 1969. The biology of mycorrhiza. 2nd ed. Leonard Hill London, 334 p.

HAYMAN D.S. 1975. The occurence of mycorrhiza in crops as affected by soil fertility. *In* F.E. Sanders B. ; Mosse B. and P.B. Tinker (ed.) Endomycorrhizas *Acad. Press. London,* 495-509.

HAYMAN D.S., 1977. Mycorrhizal effects on white clover in relation to hill land improvement. Agric. Res. Council res. Rev. 3, 82-85.

HAYMAN D.S. MOSSE B., 1972a. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Increased uptake of labile P from soil. *New Phytol. 71,* 41-47.

HAYMAN D., MOSSE B., 1972b. The role of vesicular-arbuscular mycorrhiza in the removal of phosphate from soil by plant roots. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 9, 463-470.

HAYMAN D., MOSSE B., 1979. Improved growth of white clover in hill grasslands by mycorrhizal inoculation. *Ann. Appl. Biol.* 93, 141-148.

ISLAM R., 1976. Effect of several Endogone spore types on the yield of *Vigna unguiculata.* Internal Report, *Internat. Inst. Trop. Agric.* Ibadan, Nigeria, 19 p.

JOLIVET E., 1980. Photosynthèse et fixation d'azote atmosphérique. Introduction. *Le sélectionneur français, 28,* 5-6.

JOLIVET E., MOSSE J., 1981. Non-protein nitrogenous compounds with particular attention to ureides. *In* "Chemistry and Biochemistry of Legumes" ARORA S.K. Ed. (in press).

JULLIOT J.S., BOISTARD P., 1979. Use of RP4-prime plasmids constructed *in vitro* to promote a polarized transfert of the chromosome in *Escherichia coli* and *Rhizobium meliloti. Molec. Gen. Genet.* 173 ; 289-298.

KHAN A.G., 1971. Occurence of Endogone species in West Pakistan soils. *Trans British Mycol. Soc. 56,* 217-224.

KHAN A.G., 1972a. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal association on growth of cereals. I. Effects of maize growth. *New Phytol.* 71, 613-619.

KHAN A.G., 1972b. Mycorrhizae and their signifiance in plant nutrition. *Biologia* (Pakistan) Special supplement., 42-78.

KHAN A.G., 1975. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal association on growth of cereals. II. Effect on wheat growth. *Ann. Appl. Biol.* 80, 27-36.

LAGACHERIE B., GINIES R., AMARGER N., 1976. L'inoculation du Lupin : essais préliminaires. *C.R. Acad. Agri. 62,* 987-994.

LAGACHERIE B., HUGOT R., AMARGER N., 1977. Sélection de souches de *Rhizobium japonicum* d'après leur compétitivité pour l'infection. *Ann. Agron.,* 28 (4), 379-389.

LAGACHERIE B. Sélection de souches de *Rhizobium japonicum* sur leur efficacité à fixer l'azote en symbiose. *Inf. Techniques C.E.T.I.O.M.* (à paraître).

MAGROU M.J. MAGROU M., 1940. Essai de culture de champignon symbiotique de la pomme de terre. *Acad. des Sci.,* Paris 211-234.

MAHON J.D., 1977. Respiration and the energy requirement for nitrogen fixation in nodulated pea roots. *Plant Physiol 60,* 817-821.

MARTY J.R., HILAIRE A., 1979. Quelques aspects technico-économiques de l'introduction des cultures oléoprotéagineuses dans des rotations céréalières. *C.R. Acad. Agri. France,* 65, 196-207.

MARTY J.R., HILAIRE A., DABASSE M., 1978. Associations soja-maïs et soja-sorgho grain en cultures fourragères. *C.R. Acad. Agric. France,* 4, 334-345.

MARTY J.R., HILAIRE A., 1979. Effets de divers précédents culturaux sur la conduite et la production du blé d'hiver : tentative de vue d'ensemble des effets liés à l'état du sol, aux reliquats d'azote, et aux résidus de récolte. *Agrochima,* 23 (2), 152-163.

MARTY J.R., HILAIRE A., 1979. Études préliminaires des effets de l'insertion du soja dans les rotations céréalières. *Ann. Agron.* 30 (2), 191-211.

MARTY J.R., EYCHENNE F., 1980. L'association maïs-soja en culture fourragère. *Fourrages,* 81, 113-125.

MARX C., DEXHEIMER J., GIANINAZZI-PEARSON V., GIANINAZZI S., 1982. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. Ultra-cytozymological evidence (ATP Ase) for active transfertprocessus in the host-arbuscule interface. *New Phytol.* 90, 37-43.

MASTERSON C.L., MURPHY P.M., 1976. Application of the acetylene reduction technique to the study of nitrogen fixation by white clover in the field. *In* "Symbiotic nitrogen fixation in plants". P.S. Nutman ed. *Cambridge Univ. Press.* 299-316.

MENGE J.A., DAVIS R.M., JOHNSON E.L.V., ZENTMYER G.A., 1978. Mycorrhizal fungi increase growth and reduce transplant injury in avocado. *California Agric.* 32, 6-7.

MENGE J.A., JOHNSON E.L.V., PLATT R.G., 1978. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. *New Phytol.* 81, 553-559.

MENGE J.A., LEMBRIGHT H., JOHNSON E.L.V., 1977. Utilization of mycorrhizal fungi in citrus nurseries. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1, 129-132.

METCALF S.M., 1978. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on uptake of zinc and phosphorus by cotton. *Ph. D. Thesis Univ.* California, Berkeley, California.

MOSSE B., 1956. Studies on the endotrophic mycorrhiza of some fruit plants. Ph. D. Thesis, *Univ. of London*, England.

MOSSE B., 1957. Growth and chemical composition of mycorrhizal and non mycorrhizal apple-trees *Nature*, London, 179, 922-924.

MOSSE B., 1973a. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Ann. Rev. Phytopath.* 11, 171-196.

MOSSE B., 1973b. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additionnal phosphate. *New Phytol.* 72, 127-136.

MOSSE B., 1973. The role of mycorrhiza in phosphorus solubilization. *In* J.S. Furtado (ed.), Global impacts of applied microbiology (GIAM). *Proc. Fourth Internat. Conf. Sao Paulo*, Brazil, 1971, 543-561.

MOSSE B., 1977a. Plant growth response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. X. Responses of Stylosanthes and maize to inoculation in unsterile soils. *New Phytol.* 78, 277-288.

MOSSE B., 1977b. The role of micorrhiza in legume nutrition on marginal soils. *In* J.M. Vincent, A.S. Whitney and J. Bose (ed.) Exploiting the legume *Rhizobium* Symbiosis in Tropical Agriculture. Misc. Pub 145, Coop. Ext. Serv. Coll. Trop. Agric. Univ. Hawaii, 275-292.

MOSSE B., 1978. Mycorrhiza and plant growth. *In* A.H.J. Freysen and J.W. Woldendorp (ed.) Structure and functionning of plant populations. North Holland publ. Co Elsevier, 269-291.

MOSSE B., HAYMAN D., 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. *In* unsterile field soils. *New Phytol.* 70, 29-34.

MOSSE B., HAYMAN D., 1980. Mycorrhiza in agricultural plants. *In* p. Mikola (ed.) Tropical mycorrhizal Research, *Oxford Univ. Press* England., 213-230.

MOSSE B., HAYMAN D., ARNOLD D., 1973. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. V. Phosphate uptake from 32P labelled soil solution by three plant species. *New Phytol.* 72, 809-815.

MOSSE B., POWELL C.L., HAYMAN D., 1976. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IX. Interactions between VA mycorrhiza rock phosphate and symbiotic nitrogen fixation. *New Phytol.*, 76, 331-342.

MOSSE B., STRIBLEY D.P., LE TACON F., 1981. Ecology of mycorrhizae and mycorrhizal fungi. *In* "Advances in microbial ecology" Vol. 5 Ed. M. Alexander. *Cornell Univ. Ithaca New York*, Plenum press 233 Spring Street N.Y. 10013.

MOSSE B., 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Research Bull. 194 Hawaii Inst. Of Trop. Agric. and human Resources. Univ. of Hawaii.

NICOLSON T.H., 1967. Vesicular-arbuscular mycorrhiza - a universal plant symbiosis. *Sci. Prog.* (England), 55, 561-581.

OBATON M., 1977. Effectiveness, saprophytic and competitive ability : three properties of Rhizobium Essentiel for increasing the yield of inoculated legumes. Compte-rendu du congrès "Biological Nitrogen fixation in farming systems of the Tropics". Ibadan, 1975, Pergamon Ed.

OBATON M., GIRAUD J.-J., 1977. Étude de la survie des *Rhizobium japonicum* dans le sol. *Inf. techniques CETIOM*, 57, 3-9.

OBATON M., 1977. Nutrition azotée des légumineuses fourragères. *Le Sélectionneur français, 24*, 45-48.

OBATON M., CLEYET-MAREL J.C., 1977. Ecology of *Rhizobium japonicum* in the soil. Seminal CEC Dijon. Coordination of research on protein production.

OBATON M., 1980. Activité nitrate réductase et nitrogénase chez le soja en relation avec la photosynthèse et les facteurs de l'environnement. Association du *Sélectionneur français*, Versailles.

OCAMPO J.A., HAYMAN D.S., 1981. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. II. Crop rotations and residual effects on non-host plants. *New Phytol.* 87, 334-343.

OWUSU-BENNOAH E., MOSSE B., 1979. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XI. Responses of onion, lucerne, and barley to field inoculation with two endophytes. *New Phytol.* 83, 1-9.

PATE J.S., HERRIDGE D.F., 1978. Partitioning and utilization of net photosynthate in a nodulated annual legume. *J. Exp. Bot.* 29, 401-412.

PATE J.S., LAYZELL D.B., Mc NEIL D.L., 1979. Modeling the transport and utilization of carbon and nitrogen in a nodulated legume. *Plant Physiol.* 63, 730-737.

PATE J.S., ATKINS C.A., HAMEL K., Mc NEIL D.L., LAYZELL D.B., 1979. Transport of organic solutes in ploem and xylem of a nodulated legume. *Plant Physiol.*, 63, 1082-1088.

PEARSON V., TINKER P.B., 1975. Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of endomycorrhizas. *In* F.E. Sanders, B/Mosse, Tinker P.B. (ed.) Endomycorrhizas. *Academic Press*, London, 277-287.

PLENCHETTE C., FURLAN V., FORTIN J.A., 1981. Growth stimulation of apple trees in unsterilized soil under field conditions with VA mycorrhiza inoculation. *Can J. Bot.* 59, 2003-2008.

POWELL C.L., 1975a. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VIII. Uptake of P by onion and clover infected with different Endogone spore types in 32P labelled soils. *New Phytol.* 75 ; 563-566.

POWELL C.L., 1979a. Introduction of mycorrhizal fungi into pasture soils on pelleted seed. *New Phytol.* 83, 81-85.

POWELL C.L., DANIEL J., 1978a. Growth of white clover in undisturbed soils after inoculation with efficient mycorrhizal fungi. *New-Zealand J. Agric. Res.* 21, 675-681.

PRAKASH R.D., HOOYKAAS P.J.J., LEDEBOER A.M., KILNE J.W., SCHILPEROORT R.A., NUTI M.P., LEPIDI A.A., CASSE F., BOUCHER C., JULLIOT J.S. DENARIE J., 1980. Detection, isolation and characterization of large plasmids in *Rhizobium. In* "Nitrogen fixation", Vol 2, Newton W.E. and W.H. Orme-Johnson Eds., *University Park Press*, Baltimore, 139-163.

QUEBEDEAUX B., 1979. Symbiotic N_2 fixation and its relationship to photosynthetic carbon fixation in higher plants. *In* "Photosynthesis II", Encyclopedia of Plant Physiology, New series, GIBBS M. and Latzko E. eds., *Springer Verlag*, Berlin *6*, 472-480.

RAWSTHORNE S., MINCHIN F.R., SUMMERFIED R.J., COOKSON C., COOMBS J., 1980. Carbon and nitrogen metabolism in legume root nodules. *Phytochemistry 19,* 341-355.

ROSS J.P., HARPER J.A., 1970. Effect of Endogone mycorrhiza on soybean yields. *Phytopathology*, 60, 1552-1556.

SAIF S.R., KHAN A.G., 1975. The influence of season and stage of development of plant on Endogone mycorrhiza of field grown wheat. *Canadian J. Microbiol.* 21, 1020-1024.

SANDERS F.E., TINKER P.B.H., BLACK R.L.B., PALMEREY S.M., 1977. The development of endomycorrhizal root systems. I. Spread of infection and growth promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. *New Phytol.* 78, 257-268.

SMITH S.E., DAFT M.J., 1977. Interactions between growth, phosphate content and N_2 fixation in mycorrhizal and non mycorrhizal *Medicago sativa* (Alfalfa). *Australian J. Plant Physiol.* 4, 403-413.

SPRENT J.I., BRADFORD A.M., 1977. Nitrogen fixation in field beans *(Vicia faba)* as affected by population density, shading and its relationship with soil moisture. *J. Agric. Sci.* 88 ; 303-310.

TARDIEUX P., OBATON M., 1977. La fixation biologique de l'azote, acquisitions récentes. *Acad. Agric. Fr.*, 672-687.

TRUCHET G., MICHEL M., DENARIE J., 1980. Sequential analysis of the organogenesis of lucerne root nodules using symbiotically-defective mutants of *Rhizobium meliloti. Differentiation 16*, 163-172.

TROUVELOT A., GIANINAZZI-PEARSON V., GIANINAZZI S., 1982. Les endomycorhizes en agriculture : recherche sur le blé. « Les mycorhizes » : biologie et utilisation. – Les Colloques de l'INRA N° 13, 253-256.